血管病変の Photodynamic Therapy

林 潤一*・会沢 勝夫**

(1996年4月30日 受理)

Photodynamic Therapy for Vascular Disease

Junichi HAYASHI* and Katsuo AIZAWA**

(Received April 30, 1996)

Photodynamic therapy is a new approach to treat the cardio-vascular diseases. Several photosensitizers were selectively accumulated in atherosclerotic plaques. A tunable diode laser was developed and was useful to activate the photosensitizer. Atheroma could be destroyed by photodynamic therapy. Intimal hyperplasia of the artery could also be suppressed by the combination of laser irradiation and a photosensitizer. We reviewed a new trend of photodynamic therapy in the field of atherosclerosis and vascular intimal hyperplasia.

Key Words: Atheroma, Intimal hyperplasia, NPe6, Photodynamic therapy, Smooth muscle cell proliferation

1. 緒 言

高齢化が急速に進みつつある社会において疾病構造や死亡原因は必然的に変化する。しかし死亡順位は変化しても三大死因はいまだ癌・心筋梗塞・脳梗塞である。このうち悪性腫瘍を除く虚血性心疾患と脳血管障害はいずれもが動脈硬化を背景として発症してくる。従って病変部位を主体に捉えれば血管病変が最も重要な、頻度の高い疾患といえよう。

膨大な研究が動脈硬化に関連して、その病態

の解明、新たな診断技術の導入、画期的な治療法の開発に向けなされてきた。近年著しく発展してきたレーザー技術もこの血管疾患の領域に応用され様々な成果を上げてきている。Laser Angioplasty がその代表であろう。これは高エネルギーのレーザーを利用して動脈硬化巣の蒸散に威力を発揮している。しかし穿孔などの合併症や再狭窄の問題点を有し、その解決が今後の大きな課題となっている。一方、低エネルギーのレーザーを利用した治療法が最近注目されている。光力学的治療法 Photodynamic Therapy で

* 杏林大学医学部高齢医学 (〒181 東京都三鷹市新川 6-20-2)

** 東京医科大学生理学 (〒160 東京都新宿区新宿 6-7-1)

* Department of Medicine and Gerontology, School of Medicine, Kyorin University (6-20-2 Arakawa, Mitaka, Tokyo 181)

** Department of Physiology, Tokyo Medical College (6-7-1 Shinjuku Shinjuku-ku, Tokyo 160)

ある。あらかじめ投与された光感受性物質をレーザーが励起し、引き続いて起こる光化学的反応が様々な生体反応を惹起することを利用した治療法である。このような光力学的生体反応が最初に医学へ応用されたのは癌治療の分野であるが、現在、血管病変の治療にも応用されている。

そこで本稿では、1) 粥状動脈硬化巣の除去・縮小、2) 粥状動脈硬化巣の進展や経皮的冠動脈形成術 PTCA 後の再狭窄に重要な役割を演じている血管平滑筋の遊走・増殖の抑制、内膜肥厚の防止、などに試みられている Photodynamic Therapy (PDT) の現状を概説する。

2. 粥状動脈硬化巣の PDT

粥状動脈硬化巣に対する PDT は Litvack らによって1985年に始めて報告された¹⁾。3% コレステロール食を12週間から16週間与えて大動脈に粥状動脈硬化巣を作成したウサギにヘマトポルフィリン誘導体 hematoporphyrin derivative (HpD) を5~20mg/kg 静注後、血管内にレーザーカテーテルを挿入し、血管内面から胸部大動脈あるいは大動脈弓部に波長636nmのパルス波エキシマ色素レーザーを照射した。照射エネルギーは32~288Jであった。PDT後7日目から15日目に大動脈を摘出し、内膜側の粥状動脈硬化巣の肉眼的観察と、Woods ランプによる粥状動脈硬化巣のオレンジ色の蛍光の把握により、粥状動脈硬化巣の範囲を判定した。レーザー照射をした部位での粥状動脈硬化巣の扁平化や、内膜下層のオレンジ色の蛍光の消失を認めた。

その後、1987年 Pollock ら²⁾、1988年 Neave ら³⁾、1990年 Vincent ら⁴⁾ が Dihematoporphyrin ether or ester (DHE) を用いた粥状動脈硬化巣の PDT を報告した。HpD は hematoporphyrin (HP) を酸触媒アセチル化し、アルカリ化して作製されるため、HP, protoporphyrin (PP), hydroxyethylvinyldeuteroporphyrin (HVD), DHE など数種のポルフィリン類が混在していた。従って生体内で光感受性物質として活性を示す DHE が分離精製されて用いられるようになった。

Pollock らは大動脈内膜をバルーンで障害後、

5ヶ月間2% コレステロール食にて飼育したウサギに作成した粥状動脈硬化大動脈にアルゴンイオンレーザーを照射して内膜除去をするのに必要なエネルギー量を検討した。レーザー照射の48時間前にあらかじめ DHE 5mg/kg 静脈投与した群では内膜除去に $33 \pm 3 \text{ J/cm}^2$ を要した。これは DHE 非処置群で要した $103 \pm 14 \text{ J/cm}^2$ より有意に少量であった。

Neave らはウサギの腹部大動脈にバルーンにて内膜傷害を2ヶ所つくり、その後、コレステロール食にて8週間飼育した。DHE 5mg/kg 静脈投与48時間後に麻酔下で開腹して腹部大動脈を露出し、粥状動脈硬化巣を作成した2ヶ所のうち片方のみに血管外膜面からバンドパスフィルターにより610~660nm (中心波長635nm) に調整した赤色光を照射した。照射エネルギーは 17 J/cm^2 であった。PDTの6週間後に大動脈を摘出し光学顕微鏡にて観察し、照射された側(腹側)のみに粥状動脈硬化巣の消失を認め、中膜以下には変化を認めなかった。PDTの効果を充分期待できる報告であった。

Vincent らはミニブタに2% コレステロール食負荷とバルーンカテーテルによる内膜障害にて腸骨大腿動脈に狭窄病変を作成し、7週間から8週間後にPDTを行った。DHE 2.5mg/kg 静脈投与24時間後に血管内からアルゴン色素レーザー(632nm)を0.5~1.0W で30~120秒間照射した。照射エネルギー量は15~120J。照射後2週間ないし4週間後に血管造影を行い、内腔狭窄度を測定し、PDTの効果を検討した。8例中2例は無効であったが、6例は平均71%狭窄が19%狭窄に改善された。

このように組織深達度の良い長波長側の赤色レーザーを照射し、粥状動脈硬化巣に集積したHpDやDHEを励起して光力学的生体反応を起こし、それによる組織学的変化を検討したところ、粥状動脈硬化巣の縮小、蒸散効果の増強、粥状動脈硬化巣の除去など、軽度から著効まで様々な程度の光力学的治療効果が生じることが明らかになった。

しかし、ポルフィリン系の光感受性物質の有する基本的な問題点として生体内残留時間が長く、かつ皮膚光線過敏症を無視できないことが

指摘されている。癌治療などにおいては疾患の重症度に鑑みて長期の遮光生活などを許容できる。しかし、粥状動脈硬化症は循環器系における心筋梗塞などの致死的疾患の原因になっているとはいえ、治療にあたってはこれら副作用は好ましくなく、臨床応用への大きな壁になると思われる。

臨床においてはすでにその生体内動態や副作用の熟知された薬剤を利用できれば好都合である。1985年 Murphy-Chutorian ら⁵⁾ はテトラサイクリンによるヒト動脈硬化巣の PDT を試みた。テトラサイクリンが粥状動脈硬化巣に集積し、その最大吸収波長が355nmであることから、Nd:YAGレーザーの第3高調波の355nmを用いて、動脈硬化巣蒸散がテトラサイクリン処理により有意に増強されることを摘出標本で示した。ドキシサイクリンを用いた同様の試みもなされており、臨床応用にはこれら抗生物質は有用といえよう。しかし、励起レーザーの波長が紫外外部のため組織深達性に劣るとともに短波長レーザーによる正常組織への傷害が問題となろう。

低エネルギーレーザーを用いた PDT に期待されるのは、正常動脈組織に影響を与えない波長と照射エネルギー量を用いて、光感受性物質存在部位に局限して治療効果をあげるという点にある。しかし粥状動脈硬化巣の PDT に必要な照射エネルギー量については確立していない。Mackie らは、DHE 2.5mg/kg を投与したイヌの正常冠動脈に連続波アルゴン色素レーザー(632nm)を照射した場合に、組織フルエンス fluence が $200\text{J}/\text{cm}^2$ 以下であれば正常冠動脈の組織変化はなく、安全に施行できると報告している⁶⁾。

我々はポルフィリン系とは異なるクロリン系の光感受性物質 mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) を様々な角度から検討してきた。NPe6 はクロリン骨格にアスパラギン酸を付加した暗青緑の単一化合物である。蛍光反応強度に優れ、Soret 帯の1/5の吸収強度を有する664nmの吸収帯を利用できる。水溶性で体内からの排出も早く、皮膚光線過敏症が著しく少ない光感受性物質である。癌治療への臨床応用はすでに始まっている。我々はこの NPe6 が動脈硬化巣に集積することを認めるとともに^{7,8)}、その特徴を利用してスペク

トル内視鏡による粥状動脈硬化巣の診断⁹⁾や、蛍光手術顕微鏡により映像として粥状動脈硬化巣を捉え画像診断できることを報告してきた¹⁰⁾。650～700nm のレーザーを発振できる半導体レーザーが実用化されたことから、ポルフィリン系の光感受性物質に比べて格段に励起効率が高く、励起レーザーの組織透過性もよく、皮膚光線過敏性の低い NPe6 による粥状動脈硬化巣の光力学的治療が臨床応用される環境が整いつつある。これまで我々の検討では、ウサギに実験的に作成した粥状動脈硬化巣の PDT において、血管内視鏡的に血管内膜面からの照射において、内皮細胞間隙の開大、泡沫細胞の遊走、内皮下組織の繊維網などを認めている¹¹⁾。粥状動脈硬化巣のある血管内膜側までレーザーが到達する利点を利用した血管外からの照射による PDT も可能であろう。

3. 血管平滑筋細胞に対する光力学的効果

血管平滑筋細胞の増殖・遊走が冠動脈形成術後の再狭窄の主因であることが明らかになり、その抑制に様々な薬剤の使用や遺伝子治療が試みられている。さらに最近では、psoralen や DHE などによる光力学的生体反応を利用して抑制する試みがなされ、その有効性が注目されてきている。

psoralen (P) は皮膚科領域で乾癬などの増殖性皮膚疾患の治療に用いられている薬剤で、紫外光A帯(UVA)により活性化する。両者を組み合わせた PUVA 療法が乾癬に著効を示すが、扁平上皮癌を起こしうするため最近では稀にしか用いられていない。この薬剤を用いた PDT により平滑筋細胞増殖が抑制されることを 1993 年 March らが報告した¹²⁾。ウシ大動脈平滑筋細胞培養系において、8-methoxypsoralen (8-MOP) の単独(～ $10\mu\text{mol}$)投与、紫外光の単独(～ $2.5\text{J}/\text{cm}^2$)照射では変化を認めないにもかかわらず、両者を組み合わせた 8-MOP/UVA では、8-MOP: $7\mu\text{mol} \times \text{UVA}$: $0.35\text{J}/\text{cm}^2$ から 8-MOP: $0.2\mu\text{mol} \times \text{UVA}$: $2.1\text{J}/\text{cm}^2$ において平滑筋細胞の DNA 合成が抑制された。この効果は平滑筋細胞と 8-MOP とのインキュベートが30分間でも16時間でも同じであり、また照

射後に8-MOPを洗浄する有無にかかわらず同様であった。8-MOP:1 μ mol $\times$ UVA:1.5J/cm²の1回の処置で細胞増殖は28日間抑制され、細胞周期は停止したままであった。しかも細胞障害は起きなかった。機序として成長因子の関与を調べると、8-MOP/UVAにより平滑筋細胞膜表面のPDGF受容体の数と親和性には変化を認めなかったが、EGF結合を用量依存性に障害することが認められた。

DHEを用いた検討では、ヒトの正常の動脈からの平滑筋細胞の培養と粥状動脈硬化巣からの平滑筋細胞の培養において、DHEは0.1-25 μ g/mlの範囲において濃度依存性にいずれの平滑筋細胞の増殖も抑制した。しかし粥状動脈硬化巣からの平滑筋細胞の方が正常部位からの平滑筋細胞よりDHEに感受性が高かった。再狭窄部位からと粥状動脈硬化巣からとの平滑筋細胞のDHEに対する感受性には有意差を認めなかった。DHEによる増殖抑制効果は小さい細胞に著明であった。これらの効果は励起光に暴露されない状態で認められ、DHEのみによる作用と考えられた。またDHE濃度が5 μ g/ml以上になると細胞傷害が認められた。5 μ g/mlの濃度で正常動脈由来の細胞生存率は73%であったが、粥状動脈硬化巣由来の平滑筋細胞はわずか38%の生存率であった¹³⁾。つぎにヒト動脈の培養平滑筋細胞とDHEとを24時間インキュベートしてから365nmの紫外光を照射し、24時間後の細胞傷害の程度を検討したところ、照射エネルギーが30-1200mJ/cm²において、正常血管からの細胞は80%が生存していたのに対し、粥状動脈硬化巣からの平滑筋細胞はわずか20%の生存率であった。PDTに対する感受性は粥状動脈硬化巣からの平滑筋細胞に有意に高いことが認められた¹⁴⁾。

一方、レーザーのみの平滑筋細胞への影響も検討されている。光感受性物質の非存在下において、波長依存性の平滑筋細胞遊走阻害が報告されている。白色光では全く影響がないのにもかかわらず、400~700nmの波長帯のなかで、594nmの黄色ヘリウムネオンレーザーと600 $\pm$ 10nmの単波長光にのみ、平滑筋細胞の遊走を抑える作用があるという。照射エネルギー量が0.09J/cm²と0.9J/cm²のいずれにおいても1回の照

射で平滑筋細胞の遊走を抑制した。1.0J/cm²の照射を5日間(計5.0J/cm²)行うことで、最大29%の遊走抑制効果を認めている。この場合は増殖には影響を認めなかった¹⁵⁾。

4. バルーン内膜傷害後の内膜肥厚の抑制

組織透過性に優れた長波長側に吸収帯(675nm)を有し、皮膚光線過敏性のない光感受性物質chloroaluminum-sulfonated phthalocyanine (CASPc)を用いたPDTが、PTCA後などに起こる再狭窄を抑える可能性のあることが1992年Ortuらによって動物モデルで示された¹⁶⁾。ラットの頸動脈をバルーンで障害して作製した内膜肥厚モデルを用いて、内膜肥厚の起こっていない2日目と、内膜肥厚の起こっている1週間後にCASPcを5mg/kg 静脈内投与した。投与20分後にモノクロメーターで675nmの単波長に調整したアルゴン色素レーザーを100mW/cm²で1000秒間、頸動脈の内膜側から照射した。照射エネルギーは100J/cm²。温度変化は認めなかった。バルーン内膜傷害後に内膜肥厚が最大になる14日目に頸動脈を摘出した。PDTを2日目に行った場合と7日目に行った場合のいずれにおいても照射側の内膜肥厚が著明に抑制された。組織学的検討では照射部位において内膜に中膜平滑筋細胞や炎症性細胞を認めず、内弾性板や中膜のコラーゲンやエラスチンの構造に変化を認めなかった。

Etonらは1992年にDHEを用いたPDTにより、ラビットで頸動脈のバルーン障害による内膜肥厚を有意に抑制できることを報告した¹⁷⁾。頸動脈のバルーン障害の1週間後にDHE 5mg/kg 静注した。48時間後に色素レーザー(630nm)を80mW、5分間照射した。組織フルエンス fluence は7.6J/cm²。レーザー照射の5週間後に頸動脈を摘出し狭窄の程度を検討し、内膜肥厚が有意に抑制されていることが認められた。

5. 結 語

ヒトは血管から老いるとは蓋し名言であり、血管閉塞はしばしば致命的転帰となる。代表的な血管疾患としては粥状動脈硬化症をまず挙げ

ることができるが、形成された粥腫の退縮は容易ではない。進展した粥状動脈硬化巣による狭窄部位に対しては血管形成術が行われるが、高率におこす再狭窄を確実に防止する手段をまだ持ち得ていない。循環器領域にも最新テクノロジーの導入は盛んであり、レーザー技術の応用により様々な成果を上げつつある。しかしPDTは循環器領域ではまだその端緒にいたばかりである。本稿では、PDTによる粥状動脈硬化巣の縮小・除去、再狭窄に関わる平滑筋細胞の増殖・遊走や内膜肥厚の抑制についての最近の報告を概説した。従来の治療法とは全く異なるアプローチであるPDTが近い将来、循環器領域においても臨床応用されることが期待される。

参 考 文 献

- 1) F. Litvack, W. S. Grundfest, J. S. Forrester, M. C. Fishbein, H. J. C. Swan, E. Corday, D. M. Rider, I. S. McDermid, T. J. Pacala and J. B. Laudenslager: *Am. J. Cardiol.* **56** (1985) 667.
- 2) M. E. pollock, J. Eugene, M. Hammer-Wilson, M. W. Berns: *J. Am. Coll. Cardiol.* **9** (1987) 639.
- 3) V. neave, S. Giannotta, S. Hyman and J. schneider: *Therapeutic potentials. Neurosurgery* **23** (1988) 307.
- 4) G. M. Vincent, R. W. Mackie, E. Orme, J. Fox and M. Johnson: *J. Clin. Laser Med. Surg.* **8** (1990) 59.
- 5) D. Murphy-Chutorian, J. Kosek, W. Mok, S. Quay, W. Huestis, J. Mehigan, D. Profit and R. Ginsburg: *Am. J. Cardiol.* **55** (1985) 1293.
- 6) P. W. Mackie, M. Vincent, J. Fox, E. C. Orme, E. H. Hammond, C. Chang-Zong and M. D. Johnson: *Lasers Surg. Med.* **11** (1991) 535.
- 7) K. Aizawa, T. Okunaka, T. Ohtani, H. Kawabe, Y. Yasunaka, S. O'Hata, N. Ohtomo, K. Nishimiya, C. Konaka, H. Kato, Y. Hayata and T. Saito: *Photochem. Photobiol.* **46** (1987) 789.
- 8) Y. Yasunaka, K. Aizawa, T. Asahara, H. Kato, Y. Hayata and I. Ishikura: *Lasers Life Science* **4** (1991) 53.
- 9) J. Hayashi, Y. Kuroiwa, H. Sato, T. Saito and K. Aizawa: *Cardiovasc. Res.* **27** (1993) 1943.
- 10) J. Hayashi, T. Saito, H. Sato, Y. Kuroiwa and K. Aizawa: *Cardiovasc. Res.* **30** (1995) 775.
- 11) J. Hayashi, H. Sato, T. Saito, Y. Kuroiwa, K. Aizawa, T. Fujiwara and Y. Hosoda: *SPIE* 2371 (1995) 554.
- 12) K. L. March, B. L. Patton, R. L. Wilensky and D. R. Hathway: *Circulation* **87** (1993) 184.
- 13) P. C. Dartsch, T. Ischinger and E. Betz: *Arterioecclerosis* **10** (1990) 616.
- 14) P. C. Dartsch, T. Ischinger and E. Betz: *J. Am. Coll. Cardiol.* **15** (1990) 1545.
- 15) L. I. Deckelbaum, J. J. Scott, M. L. Stetz, K. M. O'Brien, B. E. Sumpio, J. A. Madri and L. Bell: *Lasers Surg. Med.* **13** (1993) 4.
- 16) P. Ortu, G. M. LaMuraglia, W. G. Roberts, T. J. Flotte, T. Hasan: *Photodynamic therapy of arteries: Circulation* **85** (1992) 1189.
- 17) D. Eton, M. D. Colburn, V. Shim, W. Panek, D. Lee, W. S. Moore and S. S. Ahn: *J. Surg. Res.* **53** (1992) 558.

レーザーワード

光力学的治療法 (photodynamic therapy)

標的組織に選択的に集積する光感受性物質を生体に投与した後、その物質を励起する低エネルギーのレーザーを照射して、引き続いて起こる光化学的反応により様々な生体反応が惹起されることを利用した治療法。癌治療に試みられている。機序としては、標的組織内における活性酸素の発生による細胞傷害、微小血管傷害による血流遮断、などが考えられている。最近では粥状動脈効果巣の退縮にも試みられている。

(林 潤一)